BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
3e série, no 200, novembre-décembre 1973, Botanique 13

Mise en place de la silice dans les cellules épidermiques de la feuille d'une Ptéridophyte : *Selaginella kraussiana*

I. Données fournies par la microscopie électronique à balayage, la microscopie de fluorescence et la microanalyse par sonde électronique.

par C. Le Coq, C. Guervin, J. Laroche et D. Robert *

Résumé. — Chez la feuille de *Selaginella kraussiana*, les cellules épidermiques marginales sont porteuses d'ornementations caractéristiques : « dents » munies de « mucron », « verrues ». Des moyens d'investigation morphologique, cytochimique et cytophysique ont permis de suivre la dynamique de la silicification à leur niveau : une étape callosique précède toujours la mise en place de la silice. A leur minéralisation succède celle des parois externes de toutes les cellules épidermiques. L'initiation, le degré, le sens et la rapidité de l'incrustation minérale des ornementations ont été envisagés et discutés en relation avec les phénomènes de croissance.

Abstract. — In the leaf of *Selaginella kraussiana*, the marginal epidermal cells have very distinctive ornamentations : " dents " with a " mucron ", " verrues ". Means of morphological, cytochemical and cytophysical investigations enabled us to follow the dynamic of their silicification ; at their level a callosic stage always precedes the placing of silica. Their mineralisation is followed by the mineralisation of the external walls of all the epidermal cells. We have envisaged and discussed the initiation, the importance, the direction and the speed of the mineral incrustation of the ornamentations in accordance with the growth phenomenon.

La silice, déposée à l'état de gel, évolue progressivement en opale chez de nombreuses plantes, aussi bien dans l'épiderme que dans d'autres tissus. On la trouve en abondance chez les Équisétacées, les Graminacées, les Cypéracées, certaines Urticacées, Chrysophycées, en quantité moindre chez beaucoup d'autres familles : Cholorophycées et Phéophycées [**25**, **26**]. De même, chez les animaux, la teneur peut être élevée, comme chez les Radiolaires et les Spongiaires [**6**]. Ainsi que le font remarquer Lewin et Reiman [**23**], la similitude frappante du produit existant tant chez les plantes que chez les animaux suggère un mécanisme commun de dépôt.

Depuis longtemps déjà, les auteurs, intrigués par la présence de cette substance, se sont interrogés sur son utilité. Est-elle indispensable ? Influe-t-elle de façon directe dans

* C. Le Coq, C. Guervin, *Muséum national d'Histoire naturelle, Laboratoire de Biologie végétale appliquée, 61, rue de Buffon, 75005 Paris.*
J. Laroche, D. Robert, *Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie végétale, 12, rue Cuvier, 75005 Paris.*

les processus nutritionnels comme l'affirment Ching-Hong Chen et Lewin [**3**] pour *Equisetum arvense*, contrairement à ce que pense Whittenberger [**32**] ? Existe-t-il une relation étroite entre l'absorption d'acide silicique et la vie des plantes ? Ces diverses questions demeurent aujourd'hui encore sans réponse définitive, les auteurs lui octroyant un éventail de fonctions. En effet, elle jouerait un rôle, tantôt de soutien ou de protection contre les agents pathogènes et autres prédateurs [**12**, **34**], ce que contestent d'ailleurs Kaufmann *et al.* [**14**], tantôt de prévention contre une excessive perte d'eau à travers l'épiderme (Yoshida *et al.* [**34**] ont montré que la déficience en silice chez le Riz entraîne un accroissement de 30 % environ de la transpiration) aussi bien que contre la chlorose ferrique (Demolon et Bastisse [**5**] ont relevé que la silice assure une pénétration normale du fer chez les plantes) ; enfin, elle participerait au développement harmonieux des végétaux qui en contiennent beaucoup [**3**], voire à celui de toutes les plantes supérieures [**3**, **4**, **31**] en exacerbant la production d'ADN et de protéines.

La multiplicité des réponses atteste l'imprécision de nos connaissances actuelles quant au rôle physiologique joué par cette substance ; elle met en outre l'accent sur le « grand problème biologique que pose le métabolisme du silicium » [**7**].

Les informations touchant la silice chez les Ptéridophytes, hormis le cas des Équisétacées, sont peu nombreuses, anciennes pour la plupart et insuffisamment précises. Nous avons donc, après les études effectuées par Waterkeyn et Bienfait [**30**] en microscopie photonique, entrepris de nouvelles recherches chez *Selaginella kraussiana*, en faisant appel à des méthodes d'investigation plus récentes. Jusqu'ici, en effet, les auteurs se sont heurtés à des difficultés d'ordre technique pour identifier et localiser la silice dans les structures biologiques. L'emploi du microanalyseur à sonde électronique lève, aujourd'hui en grande partie, ces difficultés et autorise à proposer des réponses à deux questions essentielles. La première concerne la sécrétion de silice chez cette espèce (le mot sécrétion étant pris dans son acception la plus large, incluant l'excrétion). Est-elle le fait de quelques cellules privilégiées comme le laissent penser les travaux de Waterkeyn et Bienfait [**30**] ou bien, à l'exemple de ce que l'on constate dans les feuilles âgées de *Triticum aestivum* [**1**], de toutes les cellules épidermiques ? Cette seconde éventualité conduirait à la mise en place d'un dépôt parfaitement atypique morphologiquement, comparé à celui bien défini qui caractérise les phytolithes d'opale rencontrés dans les idioblastes [**1**]. La deuxième question intéresse la détermination, au niveau de la cellule épidermique, des mécanismes qui président à la formation des dépôts siliceux, en relation avec l'état plus ou moins actif, voire sénescent, d'une cellule en cours de sécrétion.

Selaginella kraussiana, en raison des quantités relativement faibles de silice exprimées, constitue un matériel adéquat pour tenter de résoudre ces deux problèmes. Cette espèce n'est cependant pas exempte de tout reproche ; c'est ainsi qu'elle ne nous a pas permis de déterminer la forme chimique sous laquelle se présente le silicium excrété. Est-ce une forme d'opale comme chez *Equisetum arvense* ou bien un gel de silice ? Peut-on étendre à cette Ptéridophyte l'affirmation de Lewin et Reimann [**23**] selon laquelle les études d'absorption aux infra-rouges autant que celles de dissolution « show that the form of amorphous silica present both in Higher Plants and in Diatoms is that of a silica gel », c'est-à-dire une forme de silice hydratée amorphe, donc d'acide silicique polymérisé ?

Deux articles successifs permettront de rendre compte de nos observations, l'un consacré aux données morphologique, cytochimique et cytophysique, l'autre aux aspects

ultrastructuraux de l'incrustation siliceuse de la paroi squelettique des cellules de l'épiderme foliaire.

La première partie de ce travail envisagera la silicification d'une part à l'échelle de la cellule, d'autre part à celle de l'organe foliaire.

Matériel et technique

Sur des individus de *Selaginella kraussiana* (Kunze) Al. Br. (Sélaginellacées) cultivés dans les serres du Muséum d'Histoire naturelle de Paris, nous avons prélevé des microphylles très jeunes du bourgeon (fig. 1) et d'autres plus âgées disposées le long de la tige. En liaison avec leur position sur l'axe par rapport au sol, la tige étant couchée, les microphylles se distribuent en deux types différant par la taille et la forme. Les phénomènes de minéralisation étant identiques dans les deux types, nous nous référerons toujours aux plus grandes pour simplifier les comparaisons.

Plusieurs techniques conduisant à des résultats complémentaires se sont révélées nécessaires à l'analyse des processus de la silicification. Elles sont de trois ordres : morphologique, cytochimique et cytophysique.

1. Techniques morphologiques

Les microphylles ont été observées en microscopie photonique à fond clair et en contraste de phase-fond noir après un séjour de 24 h dans un mélange éclaircissant, le chloral-lactophénol. D'autres observations ont été réalisées à l'aide du microscope électronique à balayage. Dans ce dernier cas, le matériel frais a été collé sur des portoirs caractéristiques de l'appareil et recouvert d'une pellicule d'or-palladium d'environ 250Å d'épaisseur, selon la technique que nous avons mise au point [**11**].

2. Technique cytochimique : mise en évidence de la callose

Les microphylles, préalablement éclaircies par le chloral-lactophénol, ont été colorées par une solution de bleu d'aniline selon la technique de Currier et Strugger, citée par Jensen [**13**] ; nous avons toutefois prolongé le temps de coloration jusqu'à 50 mn. Les préparations ont été observées en lumière de fluorescence avec un filtre d'excitation UG1 de 2 mm.

Après examen en microscopie à fluorescence, certaines feuilles firent l'objet d'observations au microscope électronique à balayage, analyses couplées permettant de suivre la double évolution morphologique et chimique de leurs ornementations.

3. Technique cytophysique : mise en évidence de la silice

Pour cette étude, le matériel, préparé suivant la méthode décrite par Laroche [**18**, **19**], fut examiné au moyen d'un microanalyseur à sonde électronique. Les photographies présentées résultent de l'enregistrement dit par image « X » ou « balayage », l'appareil étant réglé de façon à mettre uniquement le silicium en évidence.

Résultats

1. Les différentes formations visibles sur une feuille adulte

Une feuille adulte, prélevée sur l'axe à quelques centimètres de l'apex, présente trois types d'ornementations distincts par la forme et la localisation : les verrues (v), les dents (d) munies de mucron (m) et les mamelons (ma) (fig. 7). L'image « X » (fig. 5), obtenue au microanalyseur à sonde électronique, révèle que toute la surface foliaire, y compris les ornementations, est silicifiée et que la densité du dépôt décroît de la périphérie vers la région médiane.

a — *Les « verrues »* [1] (fig. 8, v)

Ce sont des excroissances à sommet arrondi, mesurant 3 à 4 μ de large à la base et 3 μ de haut. Leur surface est lisse et régulière. Elles sont strictement localisées, sur la face adaxiale de la feuille, sur les 3 ou 4 assises cellulaires les plus marginales. Chaque cellule porte une, plus rarement 2 rangées de 7 à 15 verrues à peu près équidistantes les unes des autres (5 μ environ).

b — *Les « dents »* [1] (fig. 9)

La bordure foliaire est constituée par une file de cellules morphologiquement très différenciées, les unes allongées (75 μ), les autres (fig. 2) longues d'une quarantaine de μ et larges de 16 μ, se prolongeant par une dent (fig. 2 et 9, d). Cette dernière, haute d'environ 25 μ, revêt la forme d'un tronc de cône, légèrement incurvé vers le bord de la feuille ; sa grande base mesure 16 μ et sa petite 8 μ. Au sommet de cette dent, pointe un mucron conique (fig. 2 et 9, m), riche en silicium (fig. 4), haut d'une dizaine de μ et admettant un diamètre basal de 5 μ. Il est recouvert par une cuticule lisse au sommet et plissée à la base (fig. 9, c).

c — *Les mamelons* (fig. 7 et 8, ma)

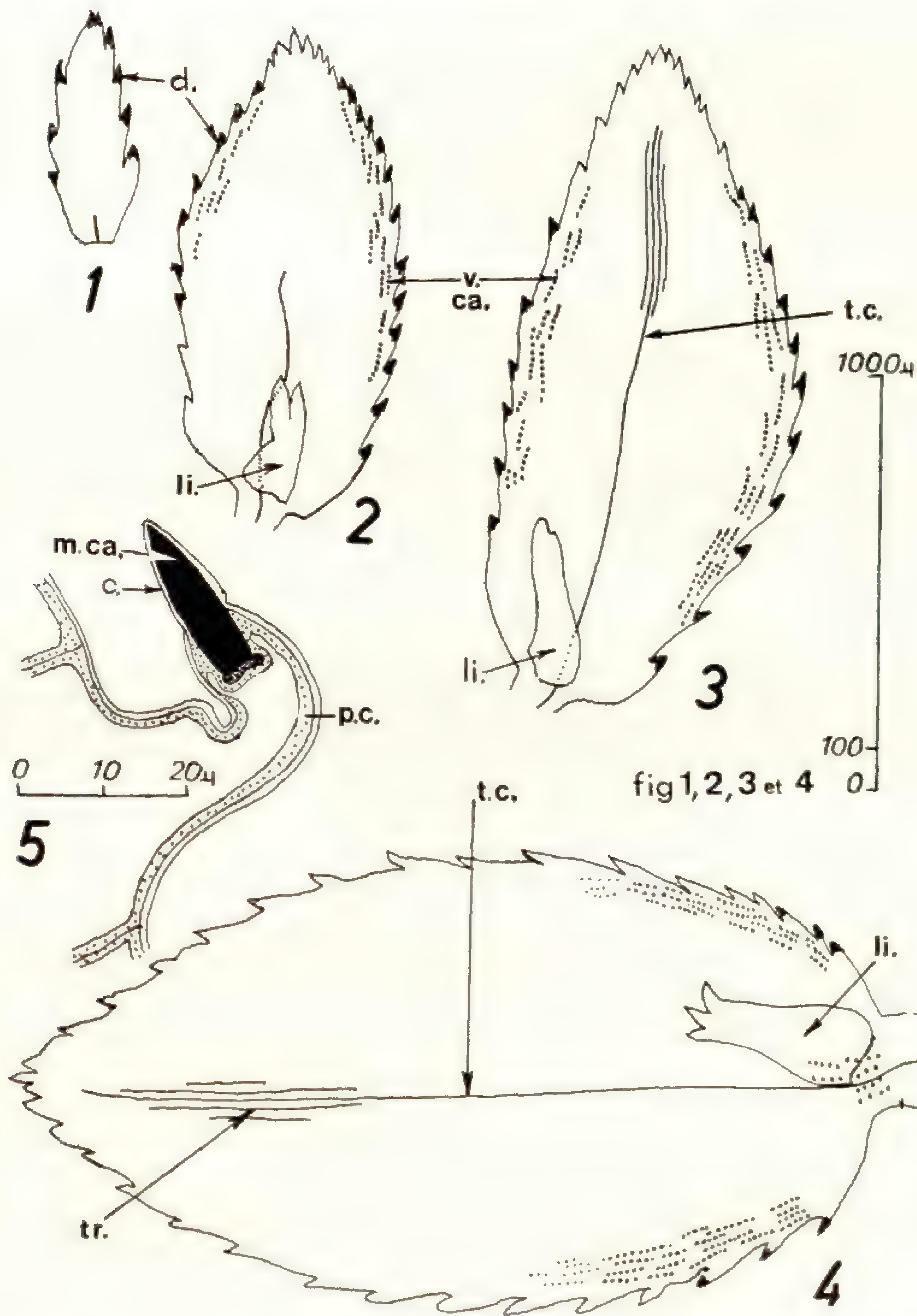
Outre les verrues et les dents, de nombreuses petites formations appelées mamelons existent sur la seule face adaxiale du limbe ; en nombre important, ces mamelons n'excèdent pas 0,5 μ d'épaisseur.

2. La silicification au cours de la croissance foliaire

Pour définir les étapes essentielles qui jalonnent la mise en place du dépôt siliceux nous avons étudié les feuilles d'âges croissant (c'est-à-dire de plus en plus éloignées de l'apex), mais toujours situées dans le bourgeon.

1. Nous avons respecté, pour ces deux types d'ornementations, la terminologie de Waterkeyn et Bienfait [**30**].

Tableau 1. — Étapes callosiques présiliceuses au cours de l'ontogenèse foliaire.



1. Très jeune feuille du bourgeon (située près de l'apex). 2. Jeune feuille du bourgeon. 3. Feuille d'âge moyen du bourgeon. 4. Feuille plus âgée du bourgeon. 5. Détail d'une dent callosique d'une feuille d'âge moyen du bourgeon. Les mucrons des dents et les verrues callosiques sont figurés en noir. c, cuticule ; d, dent ; li, ligule ; m ca, mucron callosique ; p c, paroi cellulosique ; t c, traces-conductrices ; tr, trachéides ; v ca, verrues callosiques.

a — *La très jeune feuille* (tabl. I, 1 ; fig. 1, tjf)

Une très jeune feuille, caractérisée par l'apparition des premières trachéides (tabl. I, 1), est longue d'environ 500 µ. C'est le moment où les premières ornementations sont perceptibles sur toute la bordure foliaire : des dents dotées chacune d'un mucron et aux dimensions très proches de celles relevées dans la feuille adulte. Toutefois le mucron est callosique comme l'attestent les examens pratiqués en fluorescence (fig. 15, flèches) ; épais de 4 µ à sa base et haut de 5 µ, il possède une extrémité arrondie (fig. 10, m ca). La cuticule (fig. 10, c) partout présente sur la dent et le mucron n'est pas, à ce stade, intimement adhérente au niveau de ce dernier.

b — *La jeune feuille* (tabl. I, 2 ; fig. 1, jf)

Chez une feuille de longueur sensiblement double (1 200 µ), où les trachéides atteignent la moitié de la hauteur (tabl. I, 2), on relève des modifications morphologiques et cytochimiques :

— présence de verrues et mamelons callosiques ;

— silicification des dents.

A ce stade de développement, à la dissymétrie de la feuille répond une inégalité de répartition des dents et verrues : celles du bord présentant la plus petite courbure sont en nombre moindre que celles du bord opposé (voir tabl. I, 2 ; fig. 15).

Les *verrues* (fig. 11, v ca) apparaissent dans la moitié supérieure de la face adaxiale de la feuille, au niveau des assises les plus marginales. Hautes de 2 à 3 µ et larges à la base de 3 à 4 µ, on en dénombre une douzaine par cellule. Leur surface est légèrement granuleuse et leur sommet fréquemment creusé d'une petite dépression de 0,5 µ de diamètre (fig. 11, dp). Toutes sont callosiques (fig. 16 et 17, v ca).

Concomitamment à l'apparition des verrues, a lieu à la surface de toutes les cellules de la face adaxiale celle de *mamelons* très légèrement fluorescents (fig. 11 et 17, ma) ; cette fluorescence atteste que dans sa forme de jeunesse le mamelon passe par une phase callosique.

Les *dents* moyennes et basales sont entièrement callosiques (fig. 15, m ca), les sous-apicales à la fois callosiques et siliceuses et les apicales uniquement siliceuses (fig. 6 et 15).

Les dents basales sont larges de 15 µ et hautes de 35 à 40 µ ; chacune porte un mucron callosique (fig. 11, m ca) d'une dizaine de µ de longueur et large à la base de 5 µ. La cuticule subit un étirement très net, objectivé par les plis visibles à sa base. Le mucron se termine à l'intérieur de l'extrémité de la dent à une dizaine de µ de profondeur par une base très élargie, en forme de disque d'une dizaine de µ de diamètre et d'épaisseur légèrement inférieure à 1 µ (fig. 12, 19 et 20). Ainsi la longueur totale du mucron terminal est approximativement double de celle exprimée à l'extérieur.

La morphologie des dents médianes, calloso-siliceuses, rappelle celle des dents de la base.

Les dents de l'extrémité (fig. 13 et 14), larges d'une dizaine de µ, sont terminées chacune par un mucron siliceux de 7 µ et large à la base de 5 µ. Ce dernier, pointu, est recouvert

de la cuticule tendue et plissée au niveau de l'épaulement marquant le raccord avec la dent (fig. 14). Dans une feuille de cet âge, la silicification, limitée aux dents apicales, est très rapide et donc difficile à suivre.

c — *La feuille d'âge moyen* (tabl. I, 3 ; fig. 1 f m)

Il s'agit d'une feuille d'environ 1 500 µ de longueur, dotée d'un appareil vasculaire ayant gagné le tiers supérieur. Un tel organe permet de situer avec précision dans la partie basale la zone d'accroissement par mérèse ; cette zone est visualisée par la fluorescence des très jeunes parois callosiques (fig. 18, flèche).

Les verrues, toujours localisées dans les seules assises marginales, se répartissent maintenant sur toute la bordure limbaire (fig. 18) sauf au sommet. Si les basales sont entièrement callosiques, les apicales (fig. 18, v) subissent une imprégnation minérale qui débute en leur périphérie.

Leurs mamelons sont encore légèrement fluorescents (fig. 17, ma).

Les dents, de la région basale à la région apicale, présentent tous les termes de passage entre celles à mucron entièrement callosique et celles à mucron entièrement siliceux. Nos observations sur leur silicification progressive sont en accord avec celles rapportées par Waterkeyn et Bienfait [**30**]. Cinq grands moments peuvent cependant être discernés : celui où le mucron est entièrement callosique (fig. 19, m ca : tabl. I, 5), celui où se manifestent les premiers signes d'imprégnation siliceuse à sa base et en périphérie (fig. 20), celui où seuls sa base et son axe présentent encore de la callose (fig. 21), celui où ne persiste qu'un disque basal callosique (fig. 21), celui enfin où il n'existe plus de callose par suite d'une substitution totale de silice. Pendant ces stades de minéralisation, la cuticule conserve son intégralité.

d — *La feuille plus âgée du bourgeon* (tabl. I, 4 ; fig. 3)

Elle mesure alors environ 2 000 µ et possède un système nervuraire bien développé. Des verrues callosiques se mettent en place dans la zone d'insertion de la ligule (tabl. I, 4) : apparues tardivement, elles ont des caractères s'identifiant à ceux des verrues marginales. Toutes les ornementations marginales sont silicifiées, hormis quelques dents et verrues callosiques de la base.

Au terme de la silicification nous aurons une feuille adulte, telle celle que nous avons décrite précédemment.

Discussion

Nous envisagerons successivement les faits essentiels intéressant la silicification à l'échelle de la cellule, puis ceux concernant l'ensemble de la feuille.

1. La silicification à l'échelle cellulaire

Une feuille de *S. kraussiana* est caractérisée par trois types d'ornementations : les dents munies de mucrons, les verrues et les mamelons. Les deux premiers, localisés sur les deux ou trois assises des cellules épidermiques marginales de la face adaxiale, initialement

callosiques, sont, à l'état adulte, de nature siliceuse. Le dernier, présent sur toutes les cellules épidermiques de la face adaxiale, possède initialement de la callose et subit une évolution qu'il ne nous a pas été possible de suivre ici mais que nous envisageons d'étudier ultérieurement à l'aide de moyens d'investigations différents. Waterkeyn et Bienfait [**30**] ont rapporté chez ce même matériel la présence de dents et de verrues mais n'ont pas signalé l'existence des mamelons.

Outre ces ornementations qui correspondent à des sites privilégiés de minéralisation, il existe sur la totalité de la feuille adulte une couche siliceuse continue. La sécrétion de silice chez *S. kraussiana* n'est donc pas réduite à quelques cellules spécialisées [**30**] mais est le fait de toutes les cellules épidermiques.

Les formations siliceuses exodermiques et l'imprégnation générale de l'épiderme par la silice ne sont pas spécifiques à la Sélaginelle ; de nombreux auteurs les ont décrites chez diverses plantes [**2**, **15**, **16**, **20**, **21**, **27**, **29**].

Au niveau des verrues et des dents, la paroi externe des cellules épidermiques accumule une substance organique, la callose, progressivement remplacée par une substance minérale, la silice. Pour chaque mucron, comme pour chaque verrue, la substitution de silice à la callose se réalise selon les mêmes modalités : elle débute par la base et la périphérie et progresse à la fois vers le sommet et vers le centre. La minéralisation y est donc basifuge et centripète. Le fait que le stade siliceux final soit toujours précédé d'un stade callosique semble particulier à cette espèce puisque, à notre connaissance, il n'en est pas fait mention dans les phénomènes de silicification habituellement décrits.

L'incidence de l'étape callosique est essentielle pour les mucrons et les verrues. C'est au cours de cette étape qu'ils doublent leurs mensurations et acquièrent des dimensions et une morphologie définitives. Aspect et taille sont donc déterminés précocement par l'accumulation de callose, la minéralisation ultérieure n'ayant pour seul effet que l'accentuation du relief.

Certains auteurs ont suggéré qu'il existerait un rapport étroit entre la transpiration et le dépôt de silice [**9**, **19**, **28**, **33**] : la silice circulerait à l'état d'acide mono-silicique et se déposerait sous la forme de silice hydratée ou opale ; la silicification est d'autant plus importante que la transpiration est plus grande et par conséquent le flux d'eau plus intense.

Chez *S. kraussiana*, les émergences callosiques présentent des déformations particulières, imputables à l'évaporation sous vide préalable à l'observation au microscope électronique à balayage : dépression à l'extrémité des verrues, non-adhérence de la cuticule au mucron. Ces faits attestent, selon nous, la richesse en eau de la callose et supposent l'existence d'un flux d'eau important en ces points. Le rapport étroit existant entre la callose et la silice, au début du développement foliaire, peut être relié au flux d'eau préludant à la silicification [**9**, **19**, **28**, **33**]. A cette phase de minéralisation caractérisant le stade juvénile s'oppose une seconde intéressant la suite du développement foliaire pendant laquelle s'instaure un rapport nouveau silice - glucides de la paroi autre que la callose [**8**, **14**, **22**].

2. La silicification à l'échelle de la feuille

Au sein d'un bourgeon, les feuilles d'âge croissant permettent de reconstituer les différents moments de la minéralisation. Cette dernière est très précoce, à l'exemple de ce que l'on constate chez l'Avoine [**14**] ou chez *Equisetum* [**19**]. Chez la très jeune feuille n'existent

que des mucrons callosiques ; plus tard, apparaissent des verrues également callosiques, tandis que les premiers phénomènes de silicification affectent les mucrons du sommet de la feuille. Chez une feuille plus âgée, la minéralisation atteint l'ensemble des mucrons et des verrues ; pour chacun des deux types, elle progresse dans le sens basipète, celle des mucrons précédant toujours celle des verrues. Enfin, chez une feuille adulte, l'incrustation minérale est totale et a gagné à la fois les ornementations et les parois externes des cellules épidermiques de toute la surface foliaire ; pour un niveau considéré, elle présente un gradient décroissant de la périphérie à la région nervuraire.

Ayant insisté sur la non-simultanéité de la silicification, considérons à présent la vitesse de réalisation de ce phénomène qui varie avec la position occupée par l'ornementation sur la feuille. La longueur toujours moindre des mucrons apicaux et le nombre important des stades calloso-siliceux rencontrés chez les mucrons médians et basaux prouvent que le temps nécessaire à la silicification est nettement plus long chez ces derniers.

Selon la conception classique, la minéralisation ne peut être amorcée qu'après l'arrêt de l'apport de matières organiques nécessaire à la croissance de la paroi [**10**, **24**]. Les faits ci-dessus s'accordent mal avec une telle hypothèse. Il nous paraît plus vraisemblable d'opter pour une conception qui admettrait que c'est à la minéralisation que revient le rôle d'inhibiteur de croissance et partant d'apport de matières organiques.

La feuille de *S. kraussiana* est donc caractérisée par :

— une progression basipète de l'incrustation minérale,

— une vitesse de silicification d'autant plus grande que l'on s'adresse à des ornementations plus proches du sommet,

— un arrêt de croissance des cellules épidermiques consécutif au début de la minéralisation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Blackman, E., 1969. — Observations on the development of the silica cells of the leaf sheath of wheat (*Triticum aestivum*). *Can. J. Bot.*, **47** : 827-838.

2. — 1971. — Opaline silica bodies in the range grasses of southern Alberta. *Can. J. Bot.*, **49** : 769-781.

3. Ching-Hong Chen et J. C. Lewin, 1969. — Silicon as a nutrient element for *Equisetum arvense*. *Can. J. Bot.*, **47** : 125-131.

4. Coombs, J., et B. E. Volcani, 1968. — Studies on the biochemistry and fine structure of silica-shell formation in Diatoms. Chemical silicon induced by metabolic transients in *Navicula pelliculosa*. *Planta*, Berlin, **80** : 264-279.

5. Demolon, A., et E. M. Bastisse, 1944. — Rôle vecteur de la silice dans les phénomènes géochimiques et physiologiques ; application au traitement de la chlorose ferrique. *Annls agr.* : 265-297.

6. Drum, R. W., 1968. — Electron microscopy of siliceous spicules from the freshwater sponge *Heteromyenia*. *J. Ultrastruct. Res.*, **22** : 12-21.

7. Duchaigne, A., 1962. — Richesse en silicium des végétaux. C. r. 87e Congrès natn. Soc. sav., Poitiers.

8. Engel, W., 1953. — Untersuchungen über die Kieselsäureverbindungen in Roggenhalm. *Planta*, Berlin, **41** : 358-390.

9. Frey-Wissling, A., 1930. — Über die Ausscheidung der Kieselsäure in den Pflanzen. *Ber. dt. bot. Ges.*, **48** : 179-183.

10. Frey-Wissling, A., et K. Mühlethaler, 1965. — Ultrastructural plant cytology. 377 p., Elsevier Publ., Amsterdam.

11. Guervin, C., et C. Le Coq, 1968. — Étude caryologique à l'aide de l'ultramicroscope à balayage. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **266** : 1239.

12. Ishibashi, H., et M. Kawano, 1963. — Physiological function of silica in the Rice plant. *Bull. Fac. Agric. Yamaguchi Univ.*, **9** : 917-922.

13. Jensen, W. A., 1962. — Botanical histochemistry. W. H. Freeman Edit., San Francisco.

14. Jones, L. H. P., A. A. Milne et S. M. Wadham, 1963. — Studies of silica in the cat plant — II. Distribution of the silica in the plant. *Pl. Soil*, **18** : 357-371.

15. Kaufman, P. B., W. C. Bigelow, R. Schmid et N. S. Ghoshen, 1971. — Electron microprobe analysis of silica in epidermal cells of *Equisetum. Am. J. Bot.*, **58** : 309-316.

16. Kaufman, P. B., S. L. Soni, J. D. Lacroix, J. J. Rosen et W. C. Bigelow, 1972. — Electron probe microanalysis of silica in the epidermis of Rice (*Oryza sativa* L.) internodes. *Planta*, Berlin, **104** : 10-17.

17. Lanning, F. C., 1961. — Silica and calcium in black raspberries. *Proc. Am. Soc. hort. Sci.*, **77** : 367-371.

18. Laroche, J., 1967. — Localisation de la silice par le microanalyseur à sonde électronique. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci.*, Paris, **265** : 1695-1697.

19. — 1968. — Contribution à l'étude de l'*Equisetum arvense* L. III — Recherches sur la nature et la localisation de la silice chez le sporophyte. *Revue gén. Bot.*, **75** : 65-115.

20. — 1969. — Étude des concrétions siliceuses de l'épiderme de l'*Equisetum arvense* L. au microscope à balayage. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **268** : 2417-2418.

21. Laroche, J., C. Guervin, C. Le Coq et Vo Thi Dao, 1970. — Intérêt taxinomique de l'excrétion siliceuse chez les Equisétacées. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **270** : 2958-2960.

22. Laroche, J., D. Robert, C. Le Coq et C. Guervin, 1972. — Apports de la cytochimie, de la cytophysique, des microscopies électroniques par transmission et à balayage à l'étude des phénomènes de silicification chez la feuille de *Selaginella kraussiana* L. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **275** : sér D, 2671-2674.

23. Lewin, J. C., et B. E. F. Reimann, 1969. — Silicon and plant growth. *A. Rev. Pl. Physiol.*, **20** : 289-304.

24. Mehra, P., et O. Sharma, 1965. — Epidermal silica cells in the Cyperaceae. *Bot. Gaz.*, **126** : 53-58.

25. Millington, W. F., et S. R. Gawlik, 1967. — Silica in the wall of *Pediastrum. Nature*, **216** : 68.

26. Parker, B. C., 1969. — Occurrence of silica in brown and green algae. *Can. J. Bot.*, **47** : 537-540.

27. Parry, D. W., et F. Smithson, 1957. — Detection of opaline silica in grass leaves. *Nature, Lond.*, **179** : 975-976.

28. Sangster, A. G., et D. W. Parry, 1971. — Silica deposition in the grass leaf in relation to transpiration and the effect of dinitrophenol. *Ann. Bot.*, **35** : 667-677.

29. Soni, S. L., P. B. Kaufman et W. C. Bigelow, 1971. — Electron microprobe analysis of the distribution of silicon in leaf epidermal cells of the cat plant. *Phytomorphology*, **20** : 350-363.

30. Waterkeyn, L., et A. Bienfait, 1967. — Les émergences callosiques et silicifiées des feuilles de Sélaginelles. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **264** : 1608-1611.

31. Werner, D., et A. Pirson, 1967. — Über reversible Speicherung von Kieselsäure in *Cyclotella cryptica*. *Arch. Mikrobiol.*, **57** : 43-50.

32. Whittenberger, R. T., 1945. — Silicon absorption by Rye and Sunflower. *Am. J. Bot.*, **32** : 539-549.

33. Yoshida, S., Y. Ohnishi et K. Kitagishi, 1959*a*. — The chemical nature of silicon in the rice plant. *Soil Pl. Fd, Tokyo*, **5** : 23-27.

34. Yoshida, S., Y. Ohnishi et K. Kitagishi, 1959*b*. — Role of silicon in rice nutrition. *Soil Pl. Fd, Tokyo*, **5** : 127-133.

Manuscrit déposé le 25 septembre 1973.

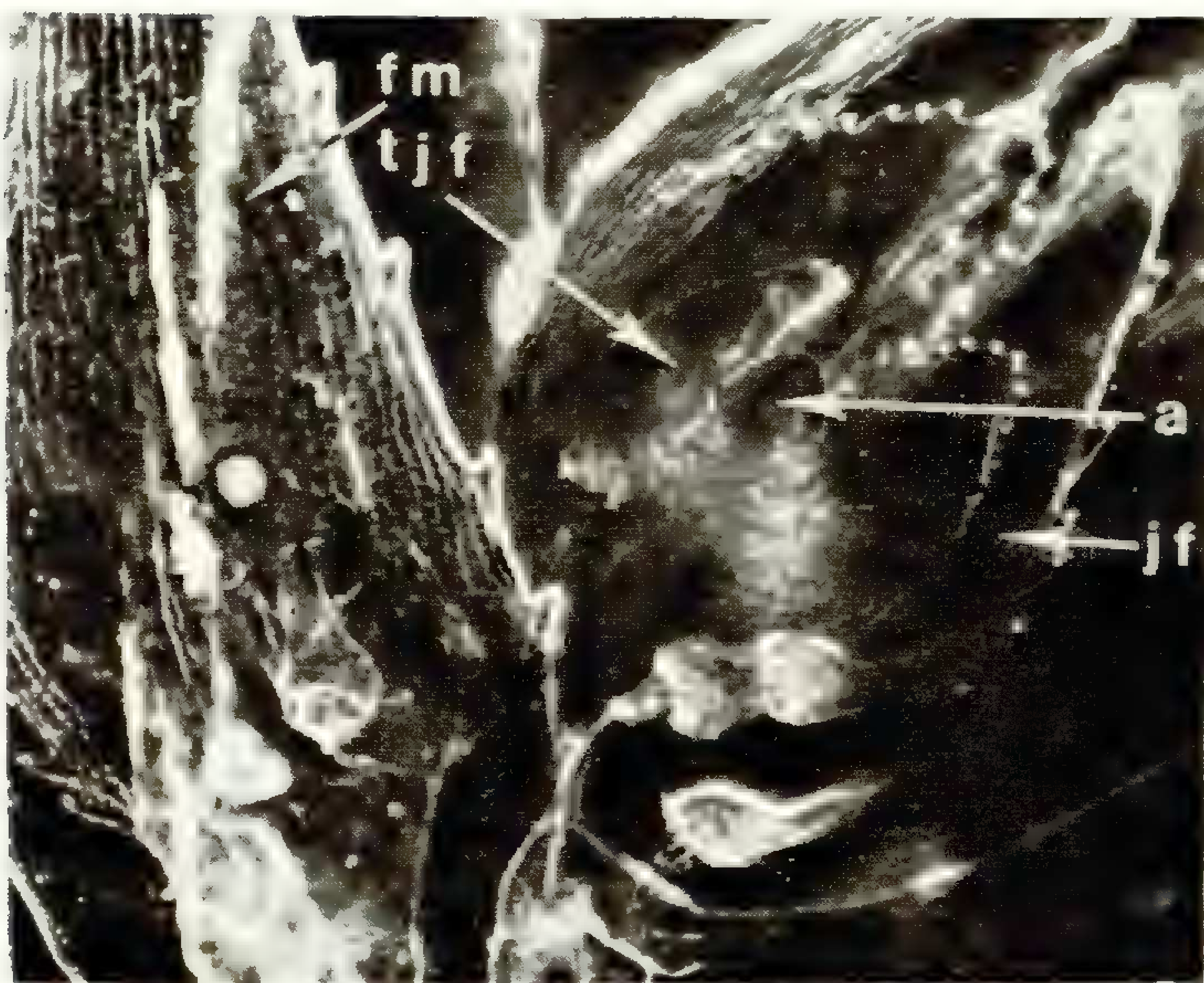
PLANCHE I

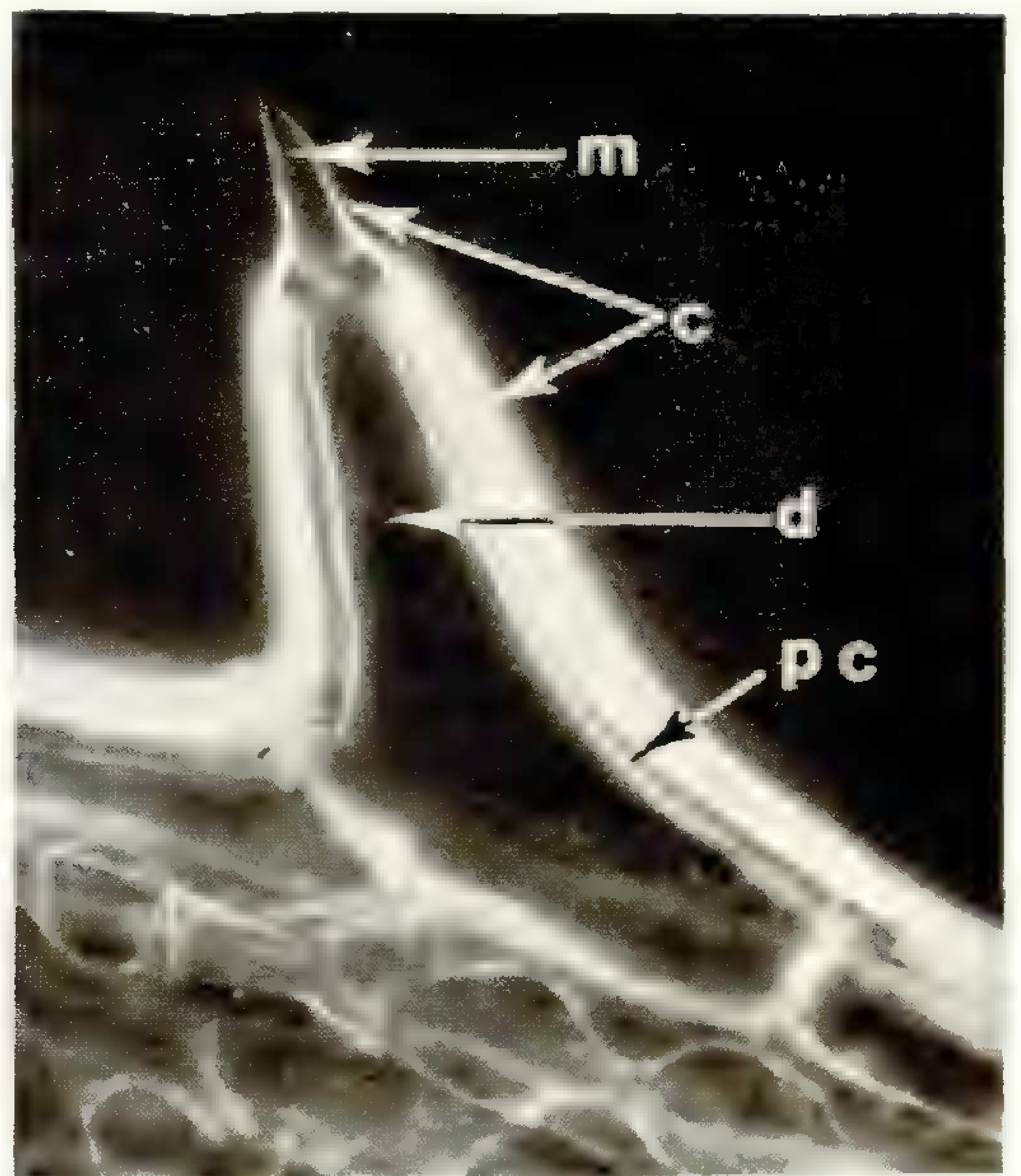
Fig. 1, 2 et 3. — Clichés réalisés en microscopie photonique à contraste de phase-fond noir après éclaircissement par le chloral-lactophénol.

1. Bourgeon de *S. kraussiana*. a : apex ; t j f : feuille très jeune ; j f : feuille jeune ; f m : feuille d'âge moyen. 2. Détail d'une portion marginale du limbe d'une feuille adulte : dent (d) avec mucron (m) silicifié. La bande blanche correspond à la cuticule (c) ; son épaisseur inégale est imputable à la technique photographique. p c, paroi cellulosique silicifiée. 3. Feuille plus âgée du bourgeon ; ligule (li) et traces conductrices (t c).

Fig. 4, 5 et 6. — Mise en évidence du silicium à l'aide du micro-analyseur à sonde électronique. (Laboratoire des microsondes du BRGM. Orléans — La Source.)

4. Image « X » obtenue par balayage d'une dent silicifiée de feuille âgée. 5. Image « X » obtenue par balayage d'une portion du limbe d'une feuille adulte. La silice est présente sur toute la surface et se distribue selon un gradient d'importance décroissante de la périphérie vers le centre. 6. Image « X » obtenue par balayage d'une portion de limbe d'une jeune feuille au début de la silicification. Seule l'extrémité apicale présente une réponse positive au niveau des mucrons (m) des dents, réponse concrétisée sur le cliché par plusieurs taches blanches.



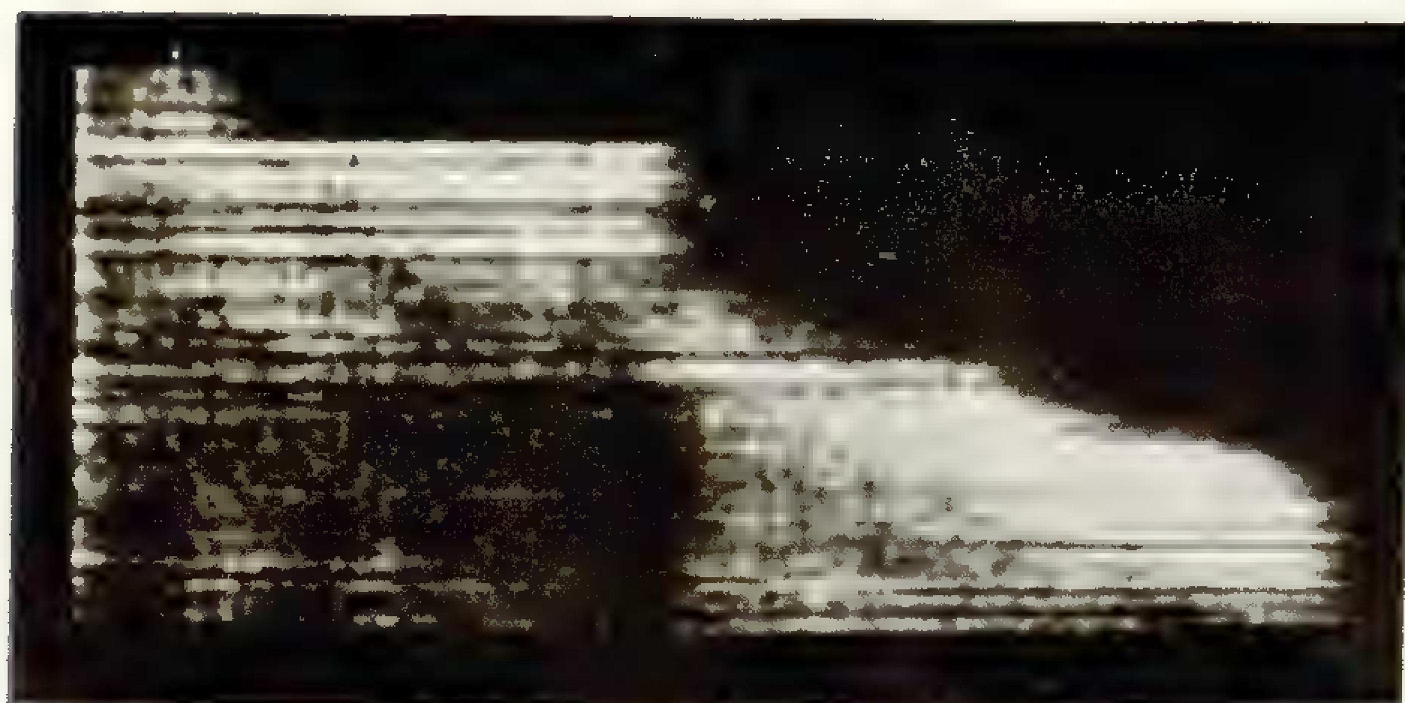




0 100 250μ phot. 1

0 10 50μ phot. 2

0 250 500μ phot. 3





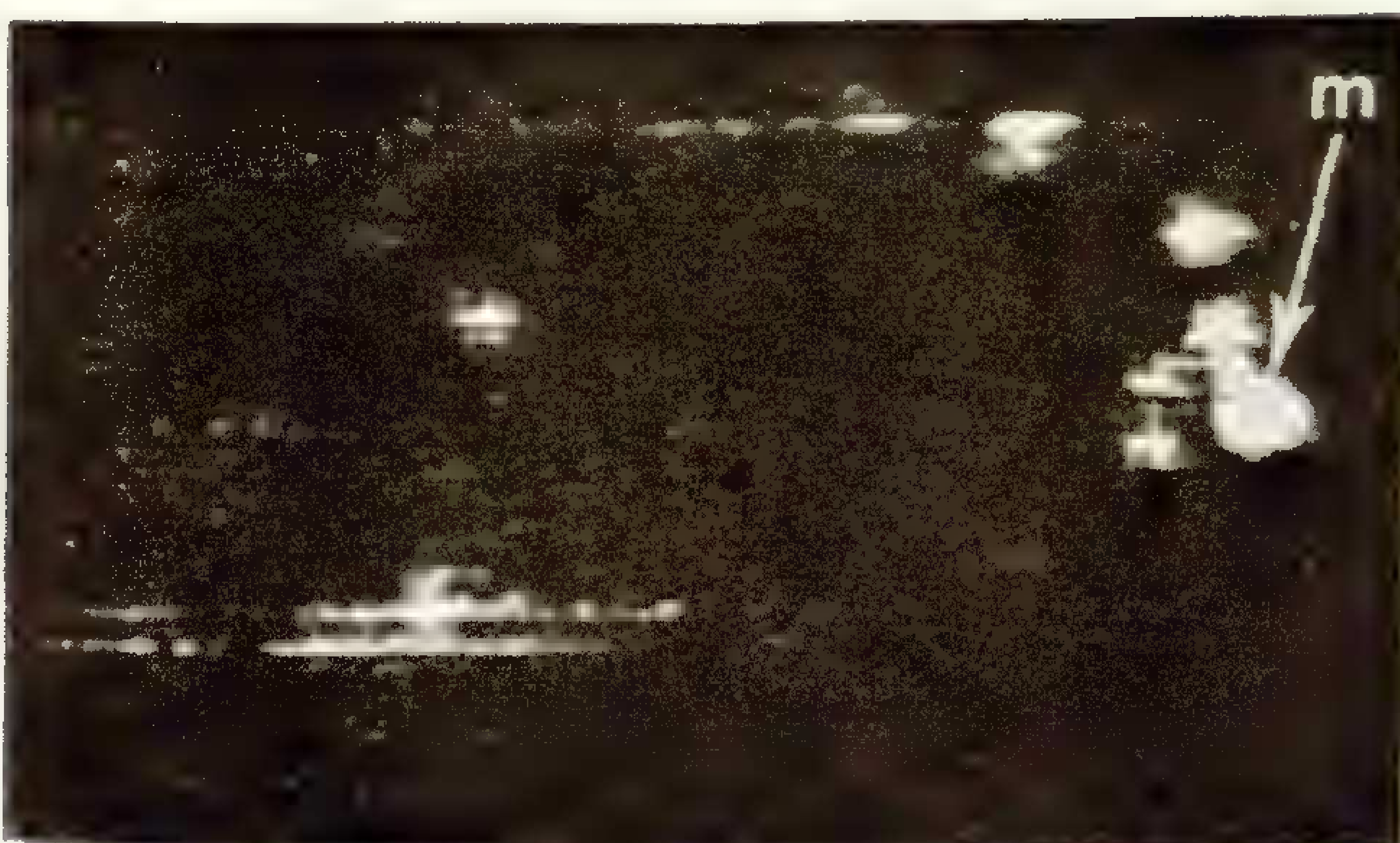
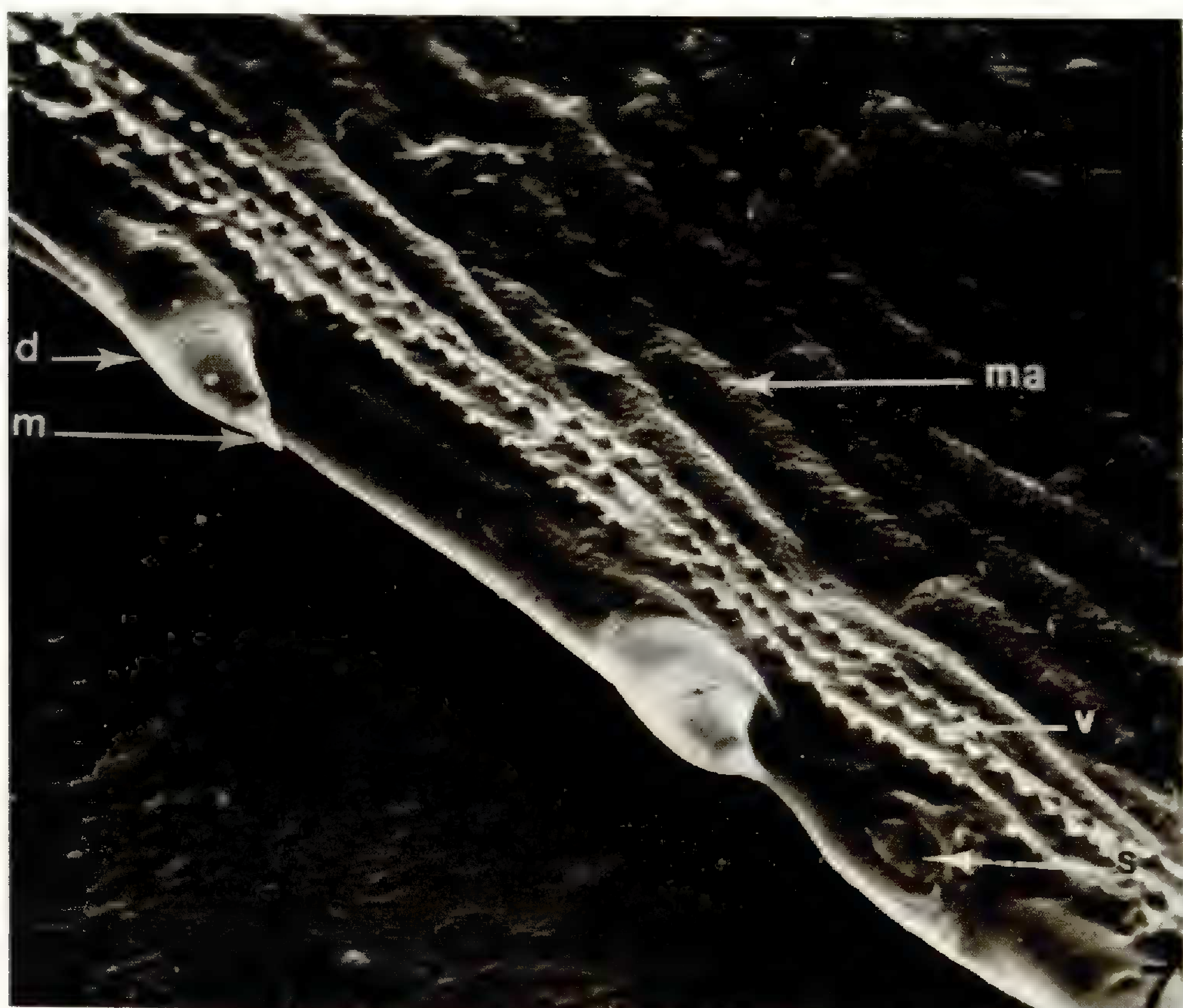


PLANCHE I

PLANCHE II

Fig. 7 et 8. — Face adaxiale de la feuille de *S. kraussiana* en microscopie électronique à balayage. (Clichés Stéréoscan, Laboratoire de Géologie du Muséum.) Le matériel n'a pas subi de traitement éclaircissant.

7. Feuille adulte. Les dents (d) et les verrues (v) siliceuses sont visibles sur les assises épidermiques marginales ; les mamelons (ma) sont difficilement perceptibles à ce faible grossissement. s, stomate aquifère (G × 475) . 8. Feuille adulte. Détail du cliché précédent : verrues (v), mamelons (ma) (G × 1900).



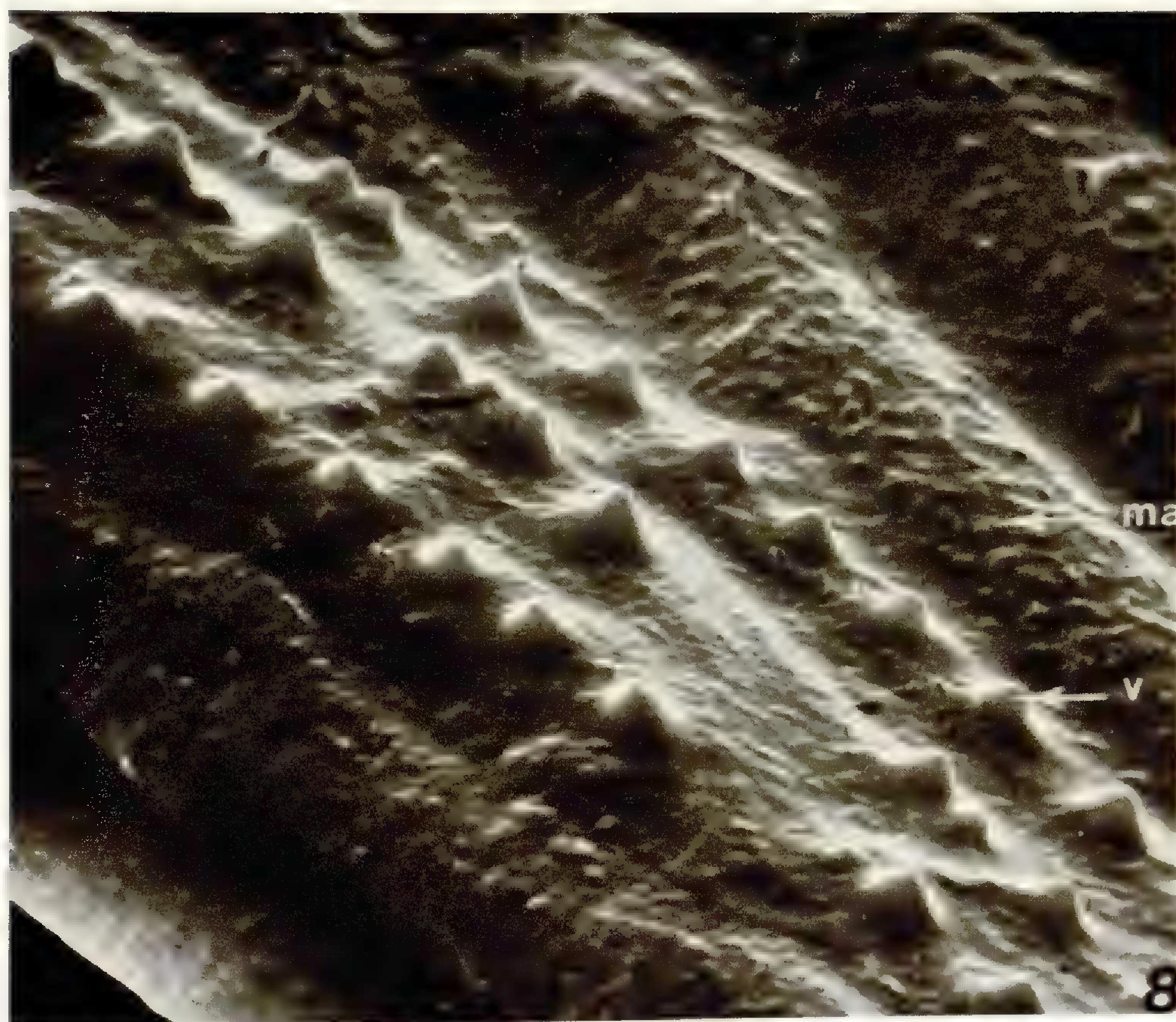


PLANCHE II

PLANCHE III

Fig. 9 et 10. — Dents de la face adaxiale de la feuille de *S. kraussiana* en microscopie électronique à balayage. (Clichés Stéréoscan, Laboratoire de Géologie du Muséum et Laboratoire d'Écologie générale du Muséum.) Le matériel n'a pas subi de traitement éclaircissant.

9. Partie sommitale siliceuse d'une dent (d) de feuille adulte ; au niveau du mucron (m) terminal la cuticule est plissée (c) (G × 4800). 10. Dent (d) d'une très jeune feuille à mucron callosique (m ca) et à cuticule (c) ondulée (G × 10000).



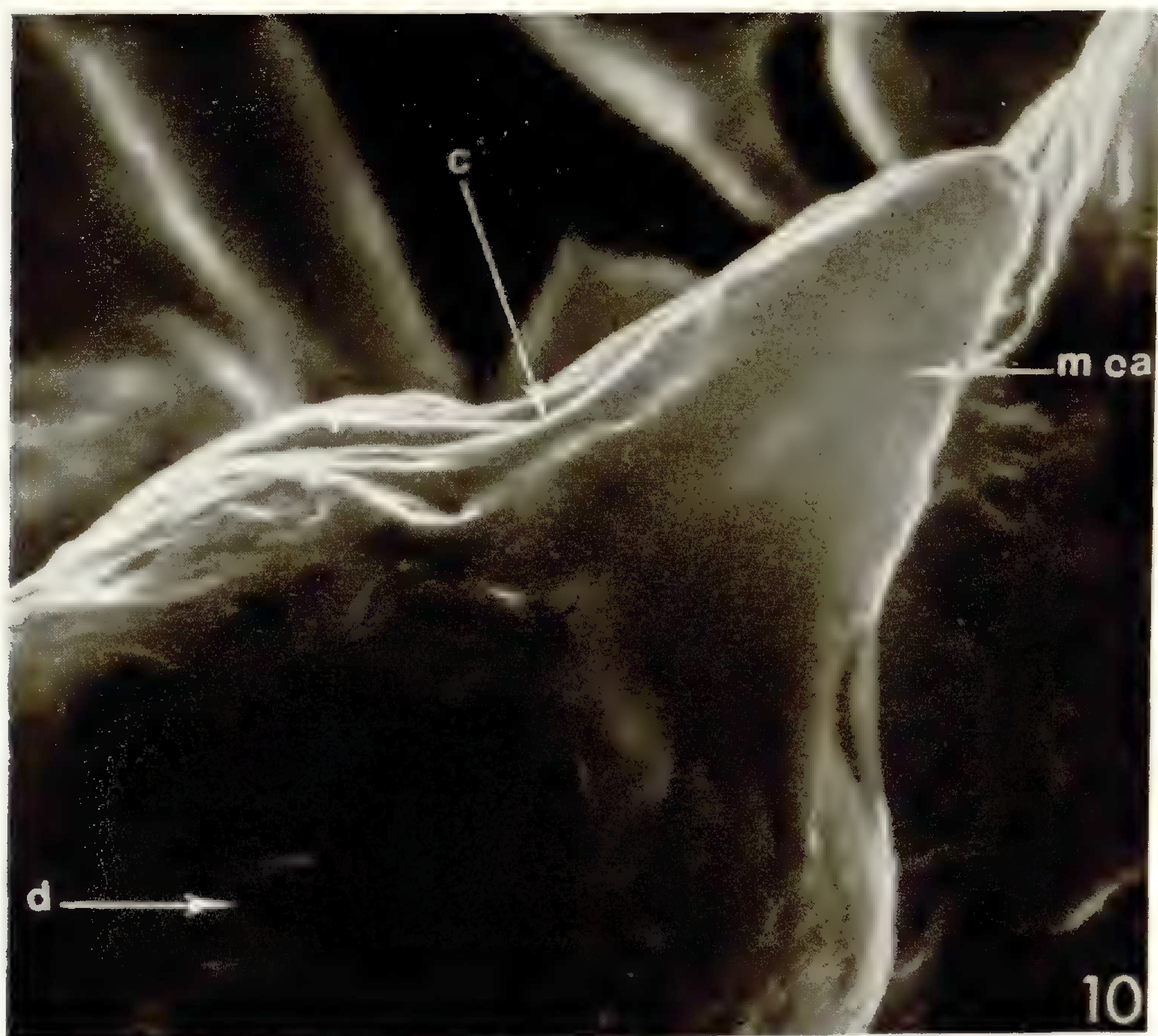
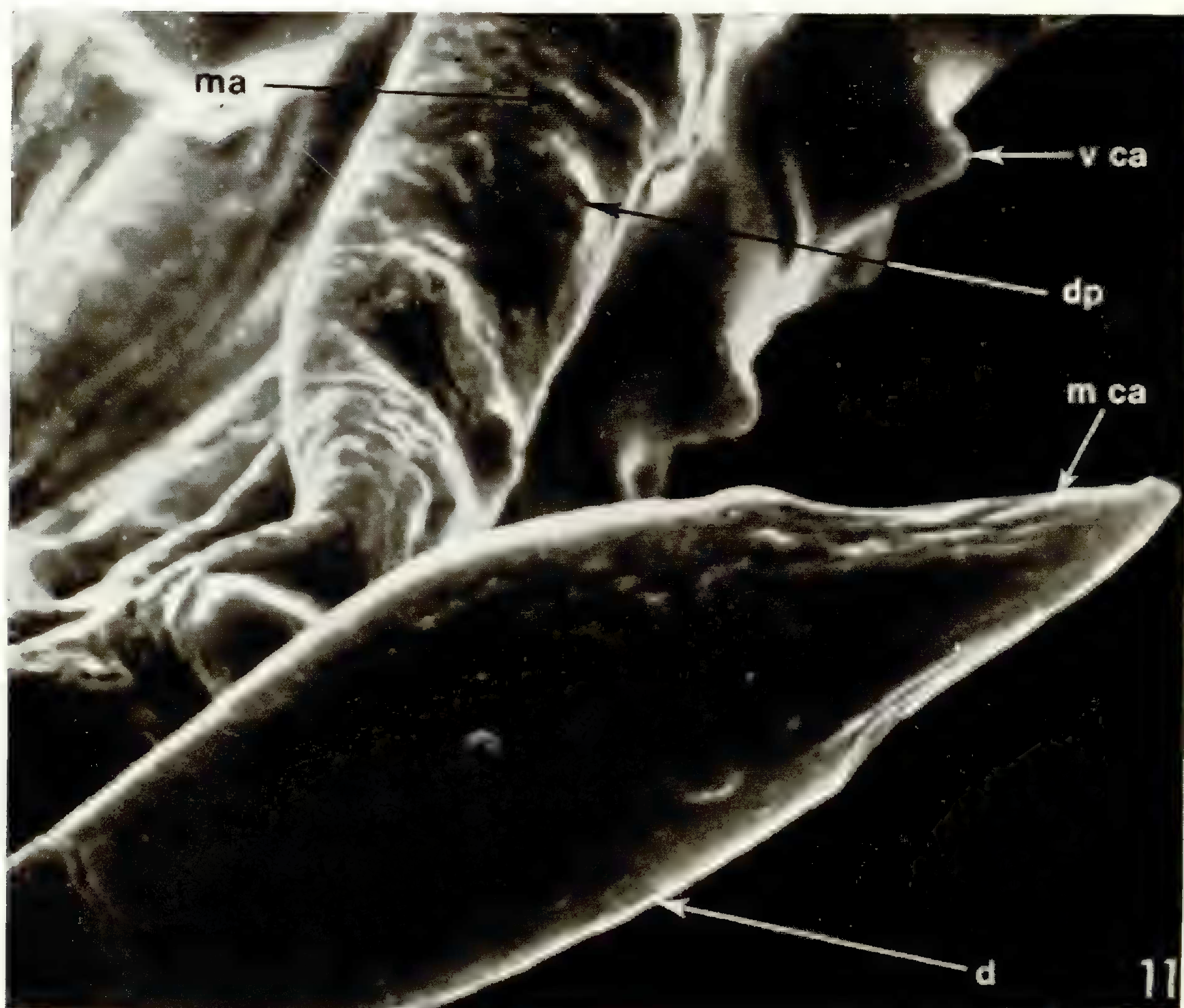


PLANCHE III

PLANCHE IV

Fig. 11 et 12. — Ornementations de la face adaxiale de la feuille de *S. kraussiana* en microscopie électronique à balayage. (Clichés Stéréoscan, Laboratoire d'Écologie générale du Muséum.)

11. Portion basale d'une jeune feuille n'ayant subi aucun traitement éclaircissant. Les verrues callosiques (v ca) montrent à leur sommet une petite dépression (dp). La dent (d) possédant un mucron callosique (m ca) est recouverte d'une cuticule nettement étirée (G × 4400). 12. Portion de dent (d) d'une jeune feuille ayant subi un traitement pour l'observation en fluorescence. Mucron callosique (m ca) à base très élargie et insérée dans le sommet déprimé de la dent ; l'aspect quelque peu dilaté du mucron et la dépression nettement accentuée de la zone d'insertion du mucron sur la cellule porteuse sont imputables au traitement préalable subi par l'échantillon en vue des études en fluorescence (G × 5750).



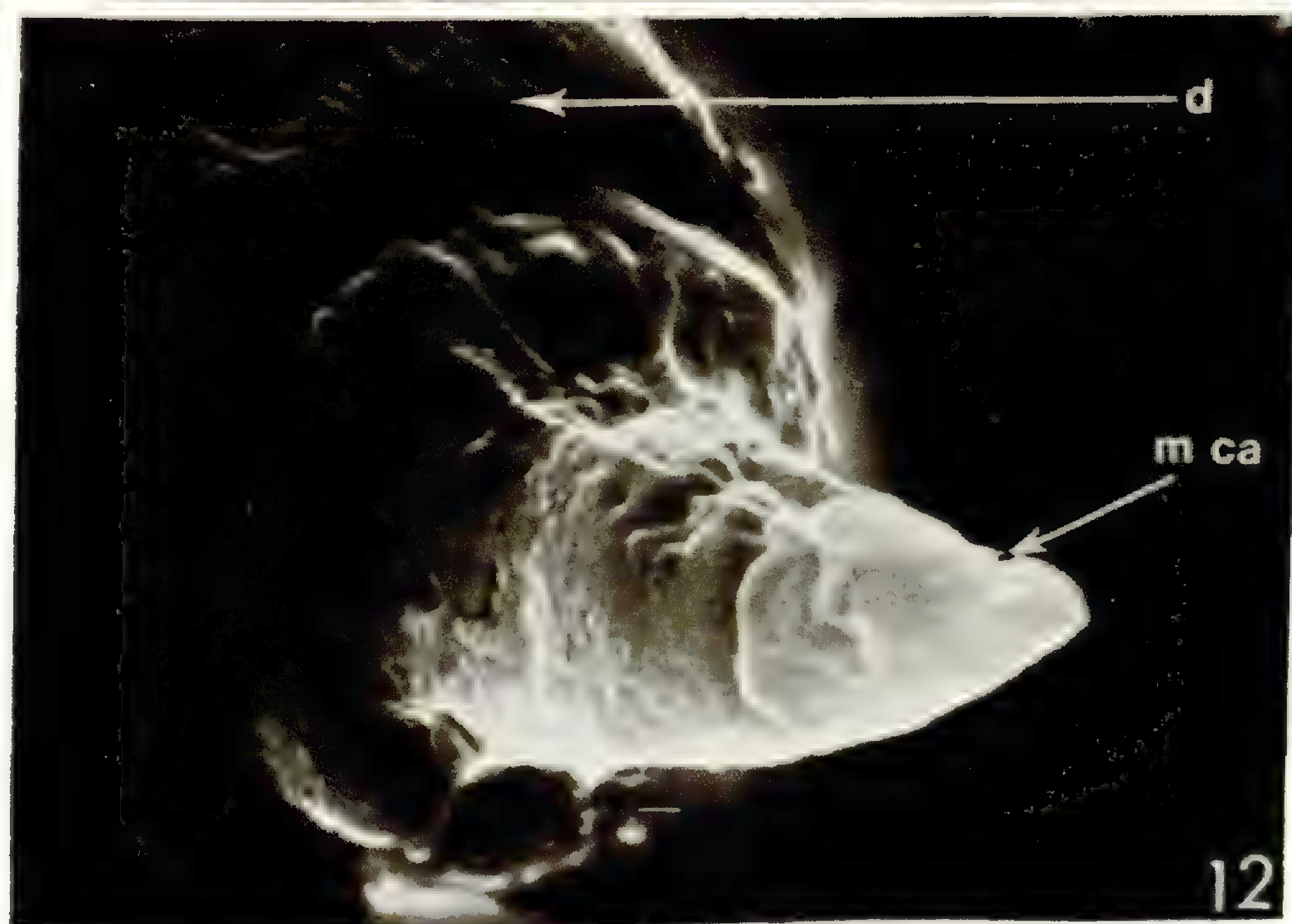


PLANCHE IV

PLANCHE V

Fig. 13. — Dent (d), proche de l'apex, à mucron siliceux (m) et à cuticule peu plissée (c) d'une jeune feuille n'ayant pas subi de traitement éclaircissant (G × 5250).

Fig. 14. — Vue générale de l'apex montrant les nombreuses dents (d) à mucron siliceux (m) d'une jeune feuille n'ayant pas subi de traitement éclaircissant (G × 1000).

(Clichés Stéréoscan, Laboratoire d'Écologie générale du Muséum et Laboratoire de Géologie du Muséum.)

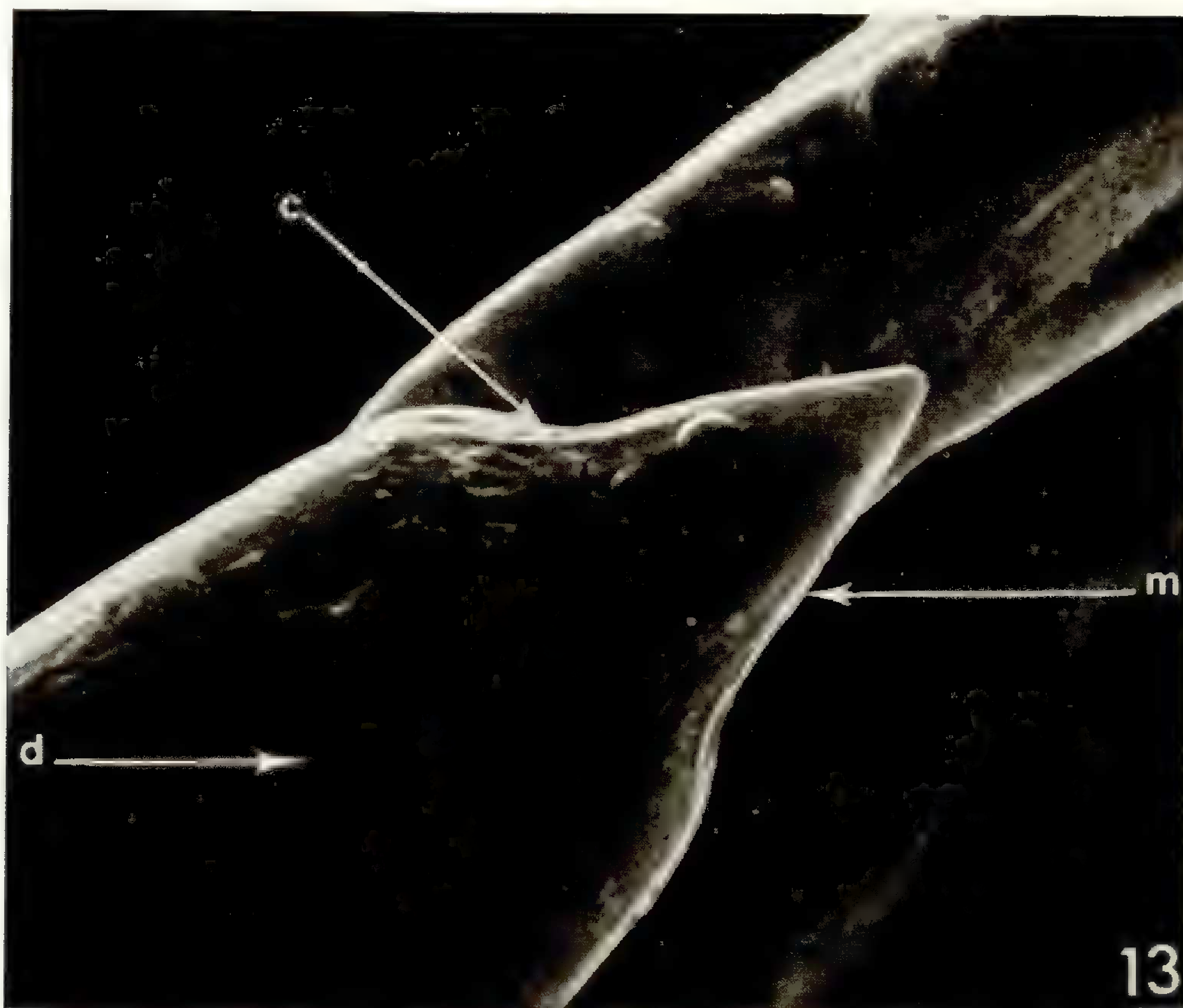


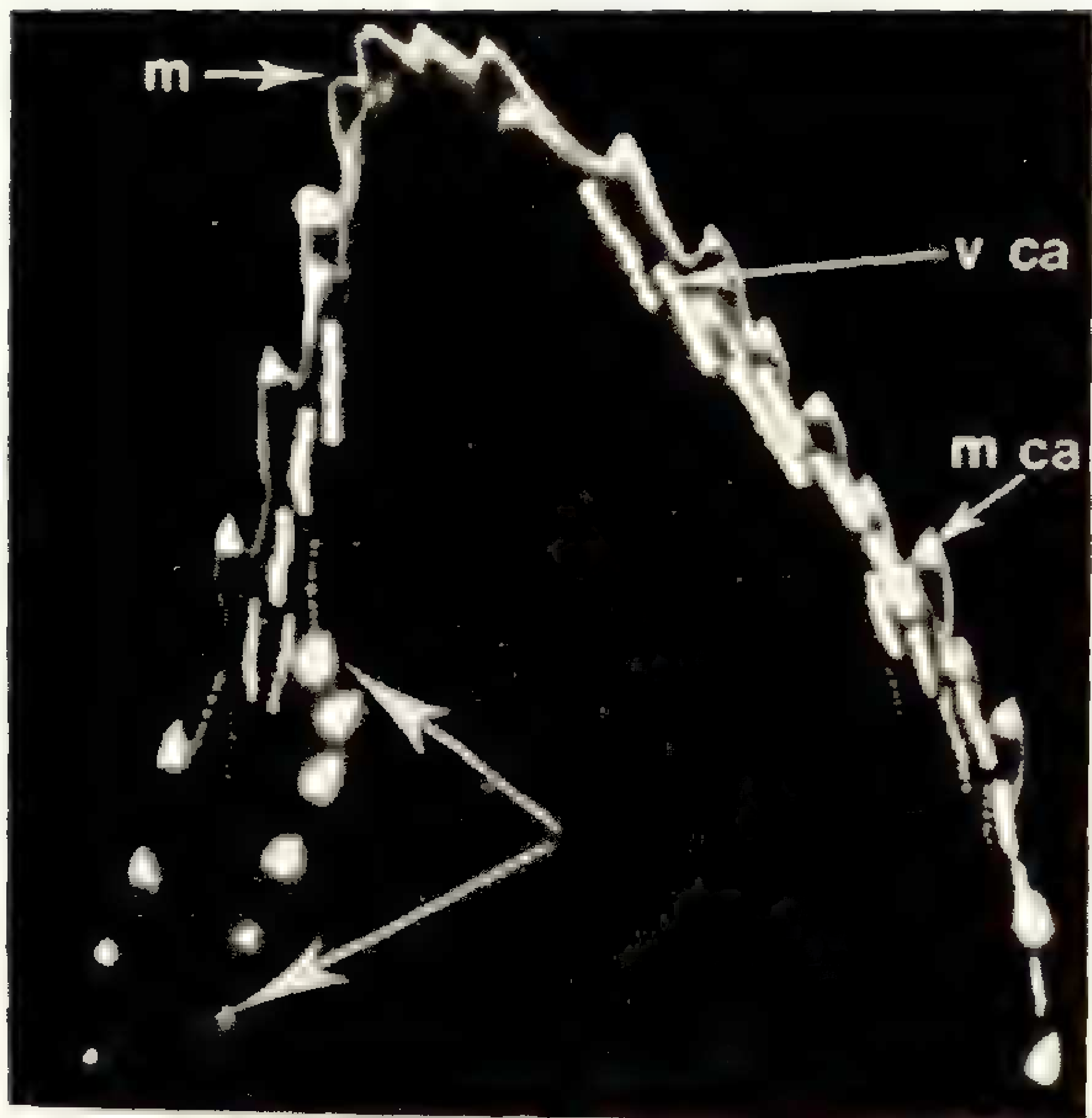


PLANCHE V

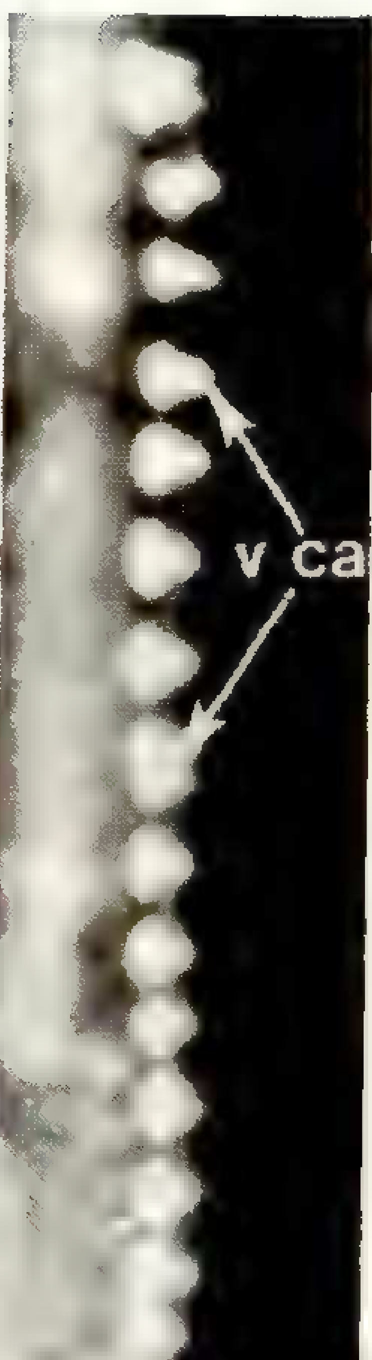
PLANCHE VI

Fig. 15 à 21. — Mise en évidence de la callose à l'aide de la microscopie de fluorescence.

15. Jeune feuille montrant la répartition des dépôts callosiques en bordure du limbe ; ceux-ci sont repérables au niveau du mucron des dents basales et médianes (m ca) et à celui des verrues subapicales et médianes (v ca). Les dents les plus apicales ont un mucron siliceux (m). En bas et à gauche du cliché, les dents fortement callosiques (flèches) appartiennent à une très jeune feuille superposée à la précédente. 16. Verrues callosiques d'une jeune feuille, vues de profil (v ca). 17. Alignement de verrues callosiques (v ca) vu de face sur le limbe d'une jeune feuille. On repère en outre une légère fluorescence au niveau des mamelons (ma) en bas et à gauche du cliché. 18. Feuille d'âge moyen. Le cliché illustre le gradient décroissant de réponse positive des ornementations à la fluorescence, depuis la région basale jusqu'à la zone subapicale ; nettement callosiques vers la base (v ca et m ca), les verrues et les dents le sont de moins en moins vers l'apex (v et d). La flèche, en bas et à gauche du cliché, indique une jeune paroi callosique séparant les deux cellules-filles résultant d'une division. li : ligule. 19 et 20. Feuille d'âge moyen montrant des dents (d) pourvues chacune d'un mucron callosique (m ca). Le mucron, sur la figure 20, est partiellement silicifié à sa base. Sur la figure 19, on note l'existence de nombreuses verrues callosiques (v ca), très fluorescentes, alignées dans le sens de l'élongation cellulaire. 21. Dents situées en position médiane (d) d'un limbe de feuille âgée. Le mucron (m) de celle visible sur la gauche du cliché présente une base et un axe callosique ; dans celui de la dent de droite, la callose se résoud à un disque basal faiblement fluorescent.



15



16



18

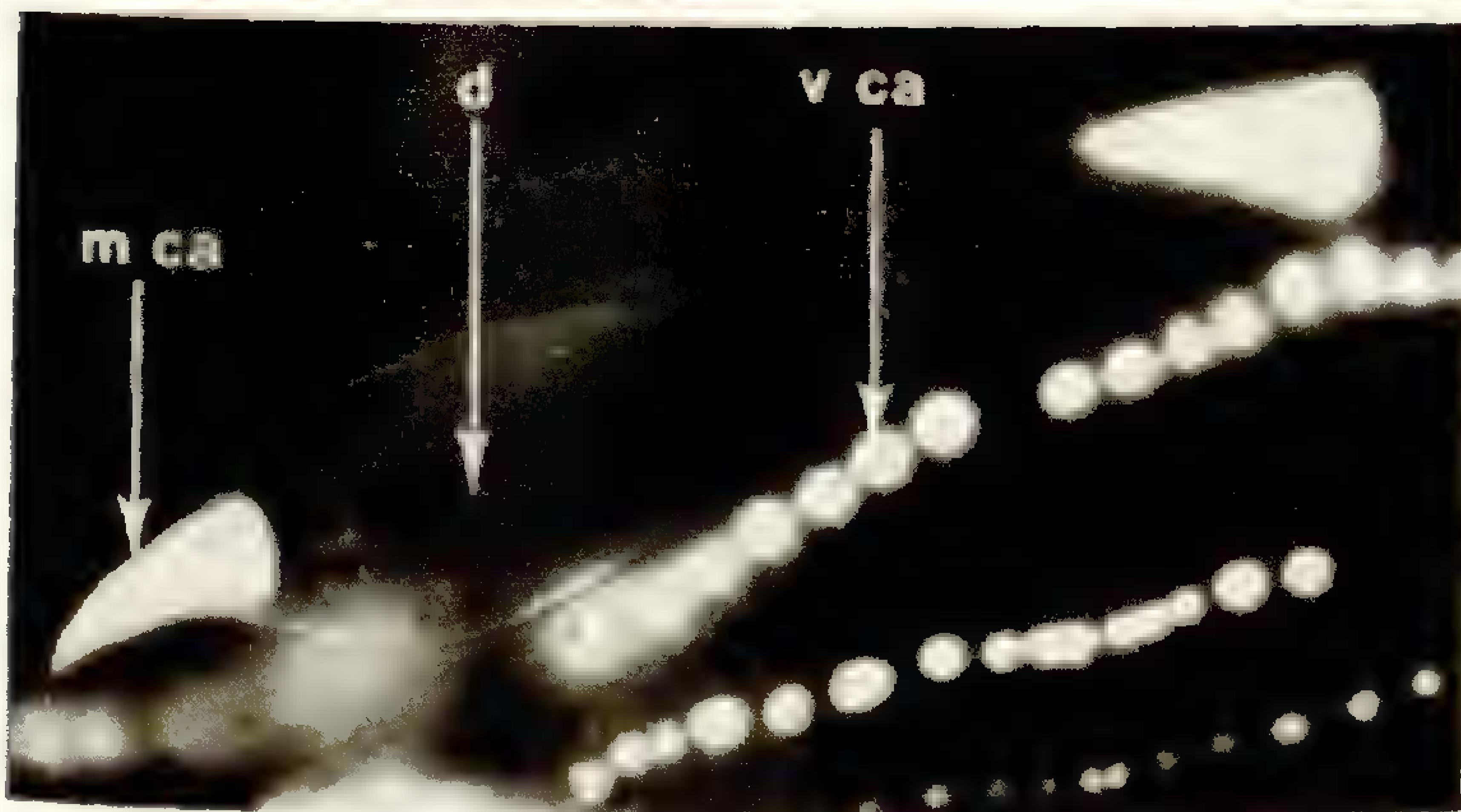
phot. 16 17
50μ
10
0



17

0 50 150μ
phot. 15 et 18

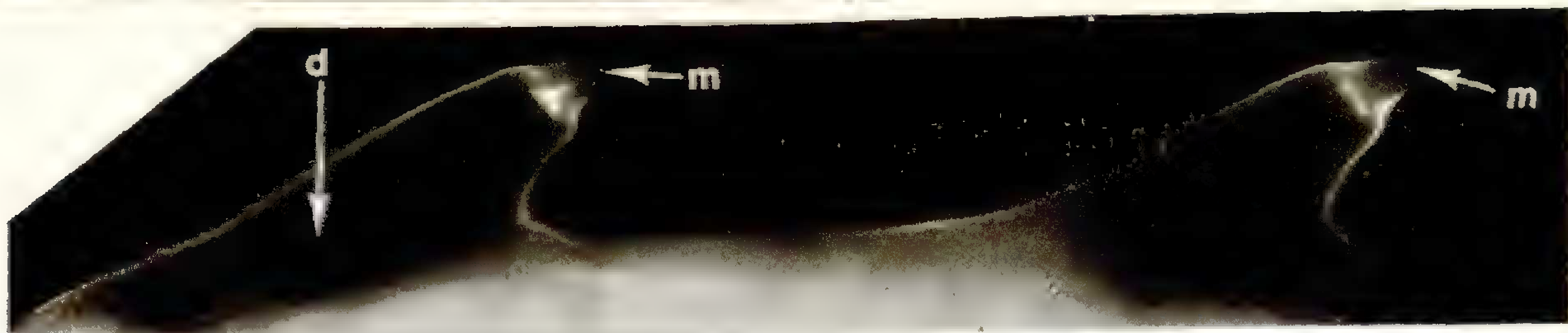
0 10 25μ
phot. 19, 20 et 21



19



20



21

PLANCHE VI